

⑫ 公開特許公報(A) 平4-182480

⑤ Int. Cl.³

識別記号

庁内整理番号

⑬ 公開 平成4年(1992)6月30日

C 07 D 311/62

6701-4C

6977-4B

A 23 L 1/03

※

審査請求 未請求 請求項の数 2 (全6頁)

⑭ 発明の名称 茶カテキン類の精製方法

⑯ 特 願 平2-311391

⑰ 出 願 平2(1990)11月19日

⑱ 発 明 者 良 辺 文 久 静岡県榛原郡相良町女神21 株式会社伊藤園研究所内
 ⑱ 発 明 者 大 須 博 文 静岡県榛原郡相良町女神21 株式会社伊藤園研究所内
 ⑱ 発 明 者 竹 尾 忠 一 静岡県榛原郡相良町女神21 株式会社伊藤園研究所内
 ⑱ 発 明 者 田 中 明 神奈川県平塚市夕陽ヶ丘63番30号 住友重機械工業株式会社平塚研究所内

⑲ 出 願 人 食品産業ハイセバレー 東京都中央区日本橋小伝馬町17番17号 峰澤ビル4階
 ションシステム技術研
 究組合

⑳ 代 理 人 弁理士 池 澤 寛
 最終頁に続く

明 細 書

1 発明の名称

茶カテキン類の精製方法

2 特許請求の範囲

(1) 茶葉抽出物から分離回収した、エピカテキン、エピガロカテキン、エピカテキンガラート、およびエピガロカテキンガラートの4種を主成分とする茶カテキン類、およびその酸化重合物を含む低純度茶カテキン類を精製する茶カテキン類の精製方法であつて、

前記分離回収した低純度茶カテキン類を有機溶媒に転溶させる転溶工程と、

この有機溶媒を留去する留去工程とを有することを特徴とする茶カテキン類の精製方法。

(2) 前記有機溶媒が、酢酸エチル、メチルイソブチルケトンもしくはジエチルエーテルの1種、あるいはこれらの混合物からなることを特徴とする請求項(1)記載の茶カテキン類の精製方法。

3 発明の詳細な説明

〔産業上の利用分野〕

本発明は茶カテキン類の精製方法にかかわるもので、とくに茶葉を原料とした低純度の茶カテキン類を低コストで精製可能な茶カテキン類の精製方法に関するものである。

〔従来の技術〕

茶葉中に多く含まれているカテキン類はポリフェノール化合物であり、フラバノール的一种である。茶葉に含まれる主なカテキンはエピカテキン、エピガロカテキン、ならびにこれらの没食子酸エステルであるエピカテキンガラート、およびエピガロカテキンガラートの4種がある。これらの茶カテキン類には、抗酸化作用、抗菌作用、その他強力な生理活性作用があることが知られている。

こうした茶カテキン類を純度良く製造するには、共存するカフェインや茶色素、アミノ酸、糖類、ステロイド、カテキン酸化物等の夾雑物の分

題が不可欠である。

本発明者らは、吸着剤を用いて茶カテキン類を選択的に吸着させ、有機溶媒を用いて溶離することにより高純度の茶カテキン類を回収する吸着分離技術を開発した(特開平1-175978号、特願平1-135463号)。これらの方法によれば、合成吸着剤を充填したクロマトカラムに茶抽出物を注入し、水および有機溶媒の濃度を変えて順次溶出することにより不純物をさきに除去し、残った茶カテキンを高濃度で回収することができるものである。

しかし、その後の研究の結果、こうした充填剤を用いて選択的に吸着する方法により製造した茶カテキン類には着色の原因となる褐色物質が含まれることが判明し、この褐色物質は茶カテキン類の酸化重合物であることが推定された。

またこれらの褐色物質には、抗酸化力や他の生理活性作用がなく、茶カテキン類の純度をさらに向上するためにこれら褐色物質を除去する必要が生じた。

方法である。

なお上記有機溶媒としては、酢酸エチル、メチルイソブチルケトンもしくはジエチルエーテルの1種、あるいはこれらの混合物からなるものが望ましい。

以下、本発明をより具体的に説明する。

第1図に本発明による茶カテキン類の精製方法の概略工程を示す。

まず、酸化重合物を含む低純度の茶カテキン類を得る工程の一例を説明する。

温水ないし熱水を用いて茶葉から茶抽出物を得る。この茶抽出物をカラムクロマトグラフィーにより処理する。すなわち、クロマトカラムに合成吸着剤を充填し、ここに上記茶抽出物に注入し、水および有機溶媒をそれらの濃度を変えて順次溶出することにより茶カテキン類を選択的に分離回収する。

こうした分離回収物を高速液体クロマトグラフィーを用いてつぎの方法で分析した。高速液体クロマトグラフィーの分析条件は以下の通りであ

〔発明が解決しようとする課題〕

本発明は以上のような諸問題にかんがみてなされたもので、上述のような吸着分離方法その他の方法により茶カテキン類およびその酸化重合物を含む低純度の茶カテキン類からその酸化重合物を選択的に除去することにより、製品品質を向上することができる、つまり高純度で抗酸化機能等の高い茶カテキン類を得ることができる茶カテキン類の精製方法を提供することを課題とする。

〔課題を解決するための手段〕

すなわち本発明は、茶葉抽出物から分離回収した、エピカテキン、エピガロカテキン、エピカテキンガレート、およびエピガロカテキンガレートの4種を主成分とする茶カテキン類、およびその酸化重合物を含む低純度茶カテキン類を精製する茶カテキン類の精製方法であって、上記分離回収した低純度茶カテキン類を有機溶媒に転溶させる転溶工程と、この有機溶媒を留去する留去工程とを有することを特徴とする茶カテキン類の精製

る。すなわち、

クロマトカラム: カプセルパックC18
(資生堂)

4. 6mm径×250mm長

溶出用溶離液:

溶離液A: メタノール/水/リン酸
(22%/78%/0.1%)

溶離液B: メタノール100%

グラジエント:

0~15分 B液 0%

15~30分 B液 0→20%

30~50分 B液 20→100%

(当初溶離液Aで溶出し、試料注入後15~30分の間に溶離液を0~20%とし、また30分~55分の間に20~100%にそれぞれリニアに上昇させる二段階グラジエント法)

流量: 1ミリリットル/分

試料量: 5マイクロリットル

検出器: 紫外線吸光度計

波長 0~22分 UV280nm

22~50分 UV350nm

である。

上記高速液体クロマトグラフィーによる分析結果を第2図に示す。ここで褐色物質とは、茶カテキン類(1、2、4、5の4種)の最後のピークであるエピカテキンガレートが溶出した後に溶出する物質であり、溶出時間25~50分で溶出する数種ないし十数種類のすべての物質である。これらの褐色物質は茶カテキン類にはない350nmの可視光部付近に吸収帯があり、したがって着色の原因となる物質であり、茶カテキン類の酸化重合物であると推定される。

しかもこれらの褐色物質を混合物として分取し、抗酸化能を調べると、上記茶カテキン類と比較し、著しく劣ることが判明した。

したがって本発明者らは、上記褐色物質等の着色物質を除去し、茶カテキン類の純度を従来の方法によるものよりさらに向上させて白色状回収物を得るための方法を開発するに至った。

すなわち本発明らは、これら褐色物質は茶カ

テキン類と同様に水溶性ではあるが、酢酸エステルやケトン類などの有機溶媒に全く転溶しない特性を有していることを発見した。

さらに一方、茶カテキン類はこれらの有機溶媒には比較的転溶しやすいため、褐色物質を含む従来回収品を水に溶解し、有機溶媒に繰り返し転溶することにより茶カテキン類と褐色物質との有機溶媒への溶解度の差を用いて分離することができることを見いだした。

本発明による精製ないし分離方法は、茶抽出液をたとえば吸着剤を用いて茶カテキン類を吸着すること等の方法により得られた低純度の茶カテキン類から、有機溶媒を用いてその酸化重合物ないし当該褐色物質を分離し、茶カテキン類のみを選択的に回収する方法である。

上述のカラムクロマトグラフィーにおける上記吸着剤としては、合成吸着剤およびゲルろ過剤を採用することができる。

合成吸着剤には、一般的な合成吸着樹脂、たとえばHP-1MGおよびHP-2MG(三菱化

成)、XAD-7およびXAD-8(オルガノ)などのメタクリル酸エステル系や、S-761(デュオライト)などのスチレンジビニルベンゼン系の吸着剤がある。

ゲルろ過剤には、デキストラン誘導体あるいは親水性ビニルポリマーを母体とする吸着剤などのゲルろ過用の樹脂、たとえばセファデックスLH-20(ファルマシア)や、トヨパールHW-40(東ソー)などがある。

また、上記カラムクロマトグラフィーにおける上記有機溶媒としては、メタノール、エタノール、あるいはアセトン等の親水性有機溶媒を用いる。

さらに、茶カテキン類を溶出したこの有機溶媒は、いったんこれを濃縮するとともに、有機溶媒を除いたのち、次工程すなわち褐色物質を除去する転溶および留去工程に供される。なお有機溶媒を除かない場合には、次工程の抽出効率が低下するとともに、次工程において使用する溶媒量が多くなり不経済である。

この褐色物質を除去するために用いられる溶媒として一般的には、水への溶解度が小さいこと、溶媒除去の必要性から沸点がそれほど高くないこと、さらに茶カテキン類はある程度溶解するが褐色物質は全く溶解しないことが望まれる。

こうした要請を満足する溶媒に該当するものとして、酢酸エチル、メチルイソブチルケトン、あるいはジエチルエーテルなどが好適であり、とくに酢酸エチルが望ましい。

一方、ジエチルエーテル以外のエーテル類たとえばイソプロピルエーテルや、ベンゼン、クロロホルム、石油エーテルおよびヘキサン等は茶カテキン類の溶解度が低く、またn-ブタノール等のアルコール類は褐色物質も溶解するために不適当である。

こうした抽出工程により、水相に茶カテキン類の酸化重合物を溶解し、有機溶媒中に茶カテキン類を転溶することによって両者を分離する(転溶工程)。

一般には、茶カテキン類を転溶させた有機溶

媒は減圧下でこれを留去し（留去工程）、ついで凍結乾燥あるいは噴霧乾燥により茶カテキン類を粉末化し、これを各種製品形態に加工する。

以上のように、酸化重合物を含む低純度茶カテキン類から当該酸化重合物を、有機溶媒を用いた液液抽出法を行って除去精製することにより、高純度の茶カテキン類の製造が可能となった。

〔作用〕

本発明による茶カテキン類の精製方法においては、茶カテキン類をたとえば吸着分離した低純度の茶抽出液を、有機溶媒を用いて液液抽出分離することとしたので、従来分離不可能であった褐色物質（茶カテキン類の酸化重合物）を分離可能となるとともに、多量の有機溶媒を必要とせず、高純度の茶カテキン類を低コストで精製することができる。

〔実施例〕

つぎに本発明の実施例を説明する。

ただし、精製用の有機溶媒を酢酸エチルのかわりにメチルイソブチルケトンおよびジメチルエーテルのそれぞれを用いた。

この場合にも、褐色物質のこれら有機溶媒層への転溶はなく、薄褐色固形分をそれぞれ6.9g、5.9gを得た。

茶カテキン類の有機溶媒層への転溶（回収率）はそれぞれ89%、75%であり、また純度はそれぞれ92~93%であった。

（応用例）

実施例1の方法で得られた有機溶媒層抽出物および水相抽出物を回収し、それぞれ少量をエタノールで溶解し、リノール酸に添加することにより抗酸化能を調べた。この抗酸化能の測定は過酸化物価（POV）により判定した。

すなわち、無添加のものと、それぞれ100ppm添加したのものとを40℃の恒温室に放置し、常法にしたがいヨードデンプン反応により過酸化物価（POV）を測定した。

（実施例1）

前述の第2図に示した組成を有する低純度の茶カテキン類（1、2、4、5の4種、純度72%）10gを1リットルの水に溶解させ、これを同量の酢酸エチルで3回処理して抽出成分のうちの茶カテキン類を酢酸エチルに転溶した。

これら酢酸エチル層を合わせて減圧濃縮し、酢酸エチルを留去ののち、常法にしたがって凍結乾燥して薄褐色固形分7.2gを得た。

この粉末を高速液体クロマトグラフィーで分析すると、褐色物質としてのA~Mのピークはほとんど検出されず、褐色物質の酢酸エチル層への転溶はなかった。

また原料に含まれる茶カテキン類のうち93%が酢酸エチルに転溶しており、茶カテキン類の純度は72%から93%へ向上した。

（実施例2）

実施例1と同様の方法で褐色物質を除去した。

第3図はこの抗酸化能曲線を示す。図示のように、茶カテキン類を含む有機溶媒層抽出物に比較して、褐色物質を含む水相抽出物の抗酸化力がきわめて弱いことがわかる。

（参考例）

煎茶1Kgに水10リットルを加え、約90℃で10分間加温抽出したのちに、ろ過し、約2リットルに濃縮し、茶抽出液を得た。この茶抽出液を、カラム充填剤としてHW-40EC（トヨパール）約2リットルを充填したクロマトカラムに全量注入したのち、60%エタノール5リットルで溶離した。

この溶離液を減圧濃縮し、エタノールを除去し、約2リットルを回収した。

この液を高速液体クロマトグラフィーで分析すると、茶カテキン類の純度は73%であった。

この液を同量の酢酸エチルで3回処理して酢酸エチル層を合わせて減圧濃縮後、常法により凍結乾燥して白色固形分80gを得た。この粉末中

の茶カテキン類の純度は87%であった。

したがって、カラム分離後の回収液を酢酸エチルで処理することにより高純度の茶カテキン類粉末を得ることができた。

【発明の効果】

以上のように本発明によれば、従来の方法で得た茶カテキン類から褐色物質（茶カテキン類の酸化重合物）を除去することができ、製品の着色がなく、ほぼ白色の茶カテキン類を回収することができる。

当該褐色物質は抗酸化力が弱く、これを除去することにより茶カテキン類の純度の向上と単位重量あたりの抗酸化力その他の生理活性機能の向上を図ることが可能となる。

4 図面の簡単な説明

第1図は本発明による茶カテキン類の精製方法の工程の概略を示す説明図。

第2図は吸着分離によるクロマトグラムを示

す説明図。

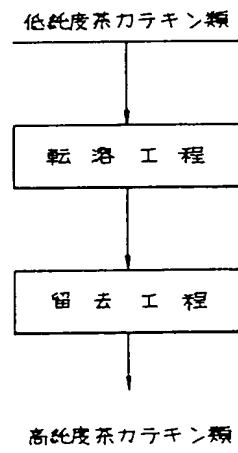
第3図は本発明の方法により精製された茶カテキン類のリノール酸に対する抗酸化能を示すグラフである。

特許出願人 食品産業ハイセパレーション

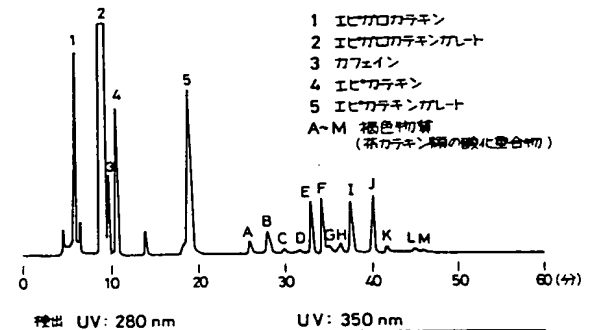
システム技術研究組合

代理人 弁理士 池澤 寛

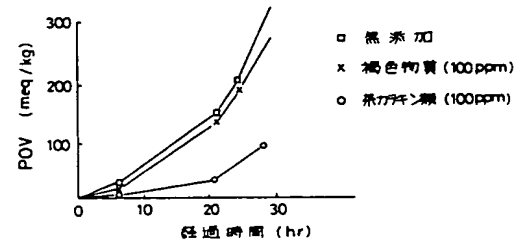
第 1 図



第 2 図



第 3 図



第 1 頁の続き

⑤Int.Cl.⁵

識別記号

庁内整理番号

// A 23 L 1/03
 3/3472
 C 09 K 15/06
 15/08
 15/34

6977-4B
 6977-4B
 6917-4H
 6917-4H
 6917-4H

⑦発 明 者 末 広 文 一

神奈川県平塚市夕陽ヶ丘63番30号 住友重機械工業株式会
 社平塚研究所内

⑦発 明 者 柴 田 憲 司

神奈川県平塚市夕陽ヶ丘63番30号 住友重機械工業株式会
 社平塚研究所内

(54) PURIFICATION OF TEA CATECHINS

- (11) 4-182480 (A) (43) 30.6.1992 (19) JP
 (21) Appl. No. 2-311391 (22) 19.11.1990
 (71) SHIYOKUHI SANGIYOU HAI SEPAEESHION SHISUTEMU GIJIYUTSU KENKIYUU KUMIAI
 (72) FUMIHISA YOSHIBE(5)
 (51) Int. Cl.⁶ C07D311/62//A23L1/03,A23L3/3472,C09K15/06,C09K15/08,C09K15/34

PURPOSE: To obtain white tea catechins having physiologically active action such as antimicrobial property at a low cost by dissolving low-purity tea catechins separated and recovered from tea leaf extract in an organic solvent and distilling the organic solvent.

CONSTITUTION: Low-purity tea catechins separated and recovered from tea leaf extract and composed mainly of epicatechin, epigallocatechin, epicatechingallate and epigallocatechingallate and containing an oxidative polymerizate (brown substance) thereof are dissolved in an organic solvent consisting of one kind of ethyl acetate, methylisobutyl ketone or diethyl ether or mixture thereof and the organic solvent is distilled out under reduced pressure and the residue is powdered by spray drying to provide the objective tea catechins.

(54) RHODANINE DERIVATIVE

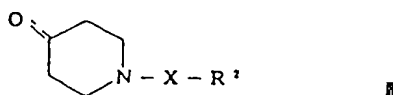
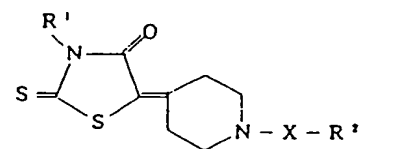
- (11) 4-182481 (A) (43) 30.6.1992 (19) JP
 (21) Appl. No. 2-311402 (22) 19.11.1990
 (71) NISSHIN FLOUR MILLING CO LTD (72) HIROKI KATO(2)
 (51) Int. Cl.⁶ C07D417/04,A61K31/455,C07D417/14//C07D417/14,C07D211/00,C07D277/00,C07D317/00

NEW MATERIAL: A compound expressed by formula I (R^1 is H or carboxymethyl; R^2 is carboxyl, alkoxycarbonyl, lower alkyl, carboxyalkyl, cycloalkyl, etc.; X is $-CH_2-$, $-CO-$ or $-SO_2-$).

EXAMPLE: 5-(1-Ethoxycarbonylmethyl-4-piperidinylidene) rhodanine.

USE: An aldose reductase inhibitor.

PREPARATION: A rhodanine (derivative) expressed by formula II is reacted with an 4-oxopiperidine compound expressed by formula III, preferably at a molar ratio of 1:1.1 to 1.5 in an organic solvent such as n-hexane at 50-150°C.

**(54) EBURNAMONINE DERIVATIVE**

- (11) 4-182482 (A) (43) 30.6.1992 (19) JP
 (21) Appl. No. 2-313111 (22) 19.11.1990
 (71) KAWAKEN FINE CHEM CO LTD(1) (72) KOJI TAKANASHI(3)
 (51) Int. Cl.⁶ C07D461/00//A61K31/435

NEW MATERIAL: A compound shown by formula I (R^1 is H or lower alkyl; R^2 is group shown by formula II (R^3 is lower alkyl), formula III (R^4 is $-N(R^5)R^6$ (R^5 and R^6 are H or lower alkyl), morpholyl, imidazolyl or pyrrolidonyl; n is 2 or 3)).

EXAMPLE: Ethyl 20,21-dinoreburnamenin-14(15H)-one-5-carboxylate.

USE: A cerebrovascular vasodilator, a cerebral ischemia protecting agent and a cerebral metabolism promoter.

PREPARATION: dl-Tryptophan shown by formula IV is esterified with a compound shown by the formula R^3OH in the presence of a hydrogen chloride gas to give a compound shown by formula V. The compound is reacted with a compound shown by formula VI in the presence of a base, the reaction product is subjected to ring closure and treated with a base to give a compound shown by formula VII. This compound is reacted with an ethyl halogenoacetate shown by formula VIII (X' is halogen), successively reduced and further subjected to ring closure in the presence of a base to give a compound shown by formula I wherein group shown by formula R^2 is group shown by formula II.

